

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A23C 9/20, 9/142, A61K 35/20	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/43905 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 27. November 1997 (27.11.97)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE97/01003 (22) Internationales Anmeldedatum: 16. Mai 1997 (16.05.97) (30) Prioritätsdaten: 196 19 990.5 17. Mai 1996 (17.05.96) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: ADLER, Charlotte [DE/DE]; Am Gewerbepark 6, D-94501 Aidenbach (DE). ACHEN- BACH, Michael [DE/DE]; Am Gewerbepark 6, D-94501 Aidenbach (DE). (74) Anwalt: KAISER, Jürgen; Kuhnert, Wacker & Partner, Alois- Steinecker-Strasse 22, D-85354 Freising (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ARIPO Patent (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(54) Title: PROCESS FOR PRODUCTION OF COLOSTRAL MILK PRODUCTS AND USE THEREOF (54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON KOLOSTRALMILCHPRODUKTEN SOWIE DEREN VERWENDUNG (57) Abstract <p>The invention relates to a process for production of a colostrum milk product from which casein has been removed, colostrum being de-fatted and acidified in such a manner that casein remains in solution and ultrafiltration is carried out so as to obtain an exclusion molecular weight of at least 10⁶ Da. The colostrum milk product obtained according to the invention is particularly suitable to be used as an additive for drugs, food supplements, beverages, baby food, animal food, in the form of beverages in intensive sport for muscle protection or for reducing the muscular recovery phase and for the prevention and treatment of bacterial, viral and mycotic infections.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines entkaseinierten Kolostralmilchproduktes, wobei Rohkolostrum entfettet wird, derart angesäuert wird, daß Kasein in Lösung bleibt und eine Ultrafiltration mit einer Ausschlußmolekularmasse von mindestens 10⁶ Da durchgeführt wird. Das erfindungsgemäß erhaltene Kolostralmilchprodukt eignet sich besonders als Zusatz für Arzneimittel, Nahrungsergänzungsmittel Getränke, Kindernahrung, Tiernahrung, als Getränke im Intensivsportbereich um Muskelzellschutz beziehungsweise zur Abkürzung der muskulären Erholungsphase sowie zur Prophylaxe und der Therapie von bakteriellen, viralen und mykotischen Infektionen.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshjan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Beschreibung

Verfahren zur Herstellung von Kolostralmilchprodukten sowie deren Verwendung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung entkaseinierter Kolostralmilchprodukte gemäß Anspruch 1, ein Kolostralmilchprodukt gemäß Anspruch 10, ein Getränk, welches Kolostralmilchprodukte enthält gemäß Anspruch 15, sowie die Verwendung von Kolostralmilchprodukten gemäß den Ansprüchen 16 und 17.

Es ist seit längerem bekannt, daß das Kolostrum - also die Vormilch - aller Säugetiere, einschließlich des Menschen, wertvolle Bestandteile enthält, die die Neugeborenen vor Infektionen schützen und weitere günstige Wirkungen aufweisen.

So beschreibt beispielsweise die EP-A-O 173 999 ein Verfahren zur Herstellung von Immunglobulinen aus Rinder- oder Humankolostralmilch, wobei eine Immunglobulinfraktion aus Rinder- oder Humankolostralmilch gewonnen wird, die sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin zur Behandlung oder Prophylaxe von bakteriellen und viralen Darminfektionen geeignet ist.

So hat sich beispielsweise herausgestellt, daß die Kolostralimmunglobuline gegen die Bakterien: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella, Staphylokokken, Enterokokken und Streptokokken sowie gegen die Viren: Varicellavirus, Cytomegalievirus, Rubellavirus, Herpesvirus und Rotavirus wirksam waren.

Hergestellt wurde eine derartige Kolostralglobulinfraktion durch Aufarbeiten von Kolostralmilch unter Ausfällen der Kaseine bei einem pH-Wert von 4,0 bis 5,5 und anschließendem Abfiltrieren des Kaseinkuchens durch Tangentialfiltration und nachfolgender Ultrafiltration mit einer Trenngrenze von 5 000 bis 80 000 Dalton.

Da der Keimgehalt in der rohen Kolostralmilch bei 10^6 bis 10^8 Keimen pro Milliliter liegen kann, beschäftigt sich die EP-A-O 471 890 mit einem Verfahren zur Gewinnung einer sterilfiltrierten, kaseinhaltigen Kolostralmilch, bei welchem das Rohkolostrum soweit angesäuert wird, daß das zunächst ausfallende Kasein wieder in Lösung geht und die erhaltene Lösung anschließend sterilfiltriert wird.

Dabei geht die Lehre der EP-A-O 471 890 davon aus, daß das Kasein selbst günstige therapeutisch anwendbare Eigenschaften hat, die besonders die Wirkung der Immunglobuline bei gastrointestinalen Störungen unterstützen. Gemäß diesem Stand der Technik werden beispielsweise aus dem Kasein opiatartige Wirkstoffe freigesetzt, die zur Hemmung der Darmbewegung und Förderung der Elektrolyt- und Wasserresorption führen. Daher ist es nach der Lehre der EP-A-O 471 890 wünschenswert, die Kolostralmilch möglichst wenig in ihrer Proteinzusammensetzung zu verändern, da sie geradezu optimal für die Prophylaxe und Therapie von gastrointestinalen Infektionen und Störungen zusammengesetzt ist.

20

Darüber hinaus beschreibt die WO 95/10192 ein Nährgetränk, auf Kolostrumbasis, welches die körperliche Leistungsfähigkeit und Erholung verbessert.

25

Ein derartiges Getränk wird hergestellt durch Entfetten des Kolostrums und anschließender Fällung und Abfiltrieren des Kaseins und Sterilfiltrieren der erhaltenen Kolostrummolke.

Ein derartiges Kolostralmilchprodukt hat jedoch den Nachteil, daß aufgrund der Kaseinpräzipitation viele günstige Bestandteile des Kolostrums wie etwa der Gehalt an Wachstumsfaktoren, beispielsweise IGF-1, IGF-2 oder TGF- β vermindert ist und daher die Ausbeute eines derartigen Kolostralmilchproduktes bezogen auf das Rohkolostrum nur dürftig ausfällt, ja bisweilen bestimmte Wachstumsfaktoren wie IGF-2 und TGF- β überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden können.

35

Ausgehend von diesem Stand der Technik war es daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, welches die Herstellung eines weitgehend entkaseinierten Kolostralmilchproduktes erlaubt, welches insbesondere die im Kolostrum
5 enthaltenen Wachstumsfaktoren möglichst quantitativ enthalten.

Die Lösung dieser Aufgabe erfolgt in verfahrenstechnischer Hinsicht durch die Merkmale des Anspruchs 1, bezüglich eines Produktes durch die Merkmale der Ansprüche 10 und 15, und verwendungstechnisch
10 durch die Merkmale der Ansprüche 16 und 17.

Dadurch, daß das Kasein derart angesäuert wird, daß es in Lösung bleibt und anschließend eine Ultrafiltration mit einer Ausschlußmolekularmasse von ca. 10^6 Dalton durchgeführt wird, wird
15 einerseits das Rohkolostrum von Kasein befreit. Dies ist insbesondere für Allergiker und für Neurodermitiker erwünscht, da Kasein für diesen Personenkreis unerwünschte Nebenwirkungen haben kann. Andererseits erreicht man überraschenderweise durch die Ultrafiltration einen Gehalt von bis zu ca. 95% bezogen auf den Gehalt des Rohkolostrums an
20 Wachstumsfaktoren, insbesondere an IGF-1.

Es ist bei dem erfindungsgemäßen Verfahren insbesondere überraschend, daß Kasein bei einer Molekularmasse von ca. $150 \cdot 10^6$ Dalton und mit seiner riesigen Oberfläche im Wege einer Ultrafiltration
25 abgetrennt werden kann, wobei die erwünschten niedermolekularen Bestandteile des Kolostrums, wie z. B. Wachstumsfaktoren und Peptide, nahezu quantitativ in das Filtrat übertreten - also ohne an die riesige Proteinoberfläche des Kaseins gebunden zu werden.

Ein mittels des erfindungsgemäßen Verfahren hergestelltes Kolostralmilchprodukt ist für viele Anwendungen im therapeutischen und Lebensmittelergänzungsbereich nützlich. So hat sich beispielsweise bei der Untersuchung von Hochleistungssportlern ergeben, daß die Kreatinkinase im Serum, ein Indikator für die körperliche Belastung,
35 signifikant niedriger ist, wenn die Probanden das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt in fester oder flüssiger Form eingenommen hatten,

sowohl regelmäßig über einen längeren Zeitraum oder unmittelbar vor starker körperlicher Beanspruchung.

Zu diesem Mechanismus ist zu sagen - ohne hierauf beschränkt zu sein, - daß die Kreatinkinase immer dann von Muskelzellen freigesetzt wird, wenn Muskelzellen in irgendeiner Form geschädigt sind. Eine derartige Schädigung tritt beispielsweise nach extremen körperlichen Belastungen auf, oder auch bei pathologischen Erscheinungsbildern wie beispielsweise Herzinfarkt oder Muskelerkrankungen. Mittlerweile ist in mehreren Studien gezeigt worden, darunter eine Doppelblindstudie während der Olympischen Winterspiele in Lillehammer mit dem finnischen Skiteam, daß Kolostrummilchprodukte die Konzentration der freien Kreatinkinase im Serum um 30 bis 40 Prozent erniedrigen, wodurch die Leistungsfähigkeit signifikant länger erhalten bleibt und sich die Regenerationszeit, also das Refraktärstadium der Muskulatur, merklich verkürzt.

Desweiteren ist aus in vitro-Studien bekannt, daß das Kolostrum die Lebensfähigkeiten und das Wachstum verschiedener Zelltypen in der Zellkultur unterstützt, da es im wesentlichen vier Hauptfraktionen aufweist, nämlich:

eine Wachstumsfaktorfraktion, eine Immunglobulinfraktion, eine Enzymproteinfraktion sowie eine Vitamin- und Peptidfraktion.

25

Es ist ferner aus Untersuchungen des Kolostrums bekannt, daß diese wesentlichen Bestandteile des Kolostrums im wesentlichen bei der Geburt des Kalbes ihren Höhepunkt erreichen und bereits 6-12 Stunden nach der Geburt bereits schon über die Hälfte ihres Gehaltes an wesentlichen Bestandteilen verloren hat und danach über die nächsten Tage stetig abfällt, wobei nach 3-4 Tagen nur noch Spuren vorhanden sind.

Es hat sich ferner herausgestellt, daß Kolostrumprodukte ohne weiteres bei sportlichen Veranstaltungen den Athleten gegeben werden können, da sie keinerlei Dopingsubstanzen enthalten.

35

Darüber hinaus hat sich herausgestellt, daß das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt als Arzneimittel, Nahrungsergänzungsmittel oder Kosmetikum sowie als Zusatz für Arzneimittel, Nahrungsergänzungsmittel, Getränke oder Kosmetika eingesetzt werden kann.

Neben der Anwendung im Sport- und Extremsportbereich haben sich überragende therapeutische Erfolge bei der Behandlung der Neurodermitis ergeben. Hierzu wurde das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt bevorzugt in Liposomen eingeschlossen und zu einer Cremegrundlage gemischt und auf die befallenen Hautpartien der an Neurodermitis leidenden Patienten aufgebracht.

Zusätzlich wurde das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt in Form eines Getränkes verabreicht.

Das Patientenkollektiv umfaßte 20 an Neurodermitis leidende Personen im Erwachsenenalter, die an neurodermitischen Erscheinungen, insbesondere auch in den Ellenbogen, litten. Die Patienten nahmen keinerlei Medikamente ein, sondern behandelten die befallenen Hautareale mit einer Creme, welche das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt enthielt. Die Konzentration des Kolostralmilchproduktes in der Creme betrug ca. 10 Gew.-%. Als Cremegrundlage diente z.B. Soja-Öl, Tegomuls, Vitamin E + A, Cholesterol, HSA, Contrex, Carotin DF + HF, Orangenblüten-Öl, Melissen-Öl, Mandarinen-Öl, Neroli-Öl, Aqua dest.. Alternativ kann die Neurodermitis auch mit einer Liposomencreme behandelt werden, deren Liposomen das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt enthielten. Die Konzentration der Liposomen in der Cremegrundlage (z.B. Soja-Öl, Tegomuls, Vitamin E + A, Cholesterol, HSA, Contrex, Carotin DF + HF, Orangenblüten-Öl, Melissen-Öl, Mandarinen-Öl, Neroli-Öl, Aqua dest.) betrug ca. 0,1 ml/g oder 10% Liposomen.

Die Behandlung wurde 14 Tage lang durchgeführt und dann vom behandelnden Arzt begutachtet. Hierbei stellte sich heraus, daß 18 von

20 Patienten einen nahezu 90-prozentigen Rückgang der neurodermitischen Hauterscheinungen aufwiesen. Sowohl die Liposomencreme als auch das oral verabreichte Kolostralmilchprodukt-Getränk wurden dann für 14 Tage abgesetzt und die neurodermitischen Exantheme erneut ärztlich begutachtet. Es stellte sich dann heraus, daß sämtliche Patienten mit überwiegendem Zurückgehen der Hautsymptome nach der ersten Kolostralmilchprodukt-Behandlungsperiode jetzt wieder an deutlichem neurodermitischen Ekzem litten.

Hierauf wurde erneut eine Behandlungsperiode von 14 Tagen angesetzt, während dieser die befallenen Hautpartien erneut mit der Creme oder Liposomencreme, die das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt in Liposomen eingeschlossen enthält, behandelt wurde und unterstützend 10 ml pro Tag eines Kolostralmilchprodukt-Getränkes verabreicht und die Hauterscheinungen erneut ärztlich begutachtet wurden.

Hierbei stellte sich heraus, daß 17 von 20 Probanden, die an der Studie teilnahmen, wieder einen deutlichen Rückgang des neurodermitischen Ekzems aufwiesen.

Aus dieser Cross-over-Studie ist klar erkennbar, daß die Besserung der neurodermitischen Hauterscheinung auf das applizierte, erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt zurückzuführen ist.

Erste Studien über einen längeren Zeitraum von ca. 6 Monaten zeigen auch, daß das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt, vorzugsweise in Form eines Dermatikums, insbesondere einer Creme, Lotion oder Salbe als Langzeittherapeutikum für die Hauterscheinungen der Neurodermitis geeignet ist.

Es wurde darüber hinaus eine Kontrollstudie mit Placebo-Liposomencreme durchgeführt, wobei die Cremegrundlage dieselbe war wie in der Versuchsgruppe, wobei die Liposomen jedoch lediglich physiologische Kochsalzlösung enthielten. Als Zusatzgetränkgabe wurde

52

entkaseinierte Milch statt der erfindungsgemäßen Kolostralmolke verabreicht.

5 Innerhalb der Kontrollgruppe von 15 Probanden mit neurodermischen Hauterscheinungen zeigten lediglich zwei signifikante Besserungen der Hauterscheinungen nach einem 14-tägigen Behandlungsintervall.

10 Durch dieses placebokontrollierte Experiment ist die Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Kolostralmilchproduktes weiter gesichert.

15 Neben der bereits erwähnten ausdauersteigernden Wirkung und der günstigen Wirkung auf die Erholungsphase der Muskulatur und der oben nachgewiesenen Wirkung bei Neurodermitis, läßt sich das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt auch noch einsetzen als Bestandteil von Babynahrung, diätetischer Nahrung, klinischer Nahrung, insbesondere Sondennahrung, sowie bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Allergien, insbesondere Heuschnupfen, Pollenallergien, Herzinfarkten und muskulären Erkrankungen während der
20 Rehabilitation. Diese Wirkungen zeigen sich insbesondere an der Senkung der Kreatinkinase, was eine Indikation für eine Erholungsphase der Muskulatur ist. Es hat sich ferner herausgestellt, daß die erfindungsgemäßen Kolostralmilchprodukte sich zur Unterstützung von Leber- und Knochenerkrankungstherapien eignen.

25 Ferner hat das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt auch günstige Wirkung zur Prophylaxe und Unterstützung viraler, bakterieller und mykotischer Infektionen sowie generell zur Unterstützung und Stärkung des Immunsystems, was sich durch den erhöhten Gehalt an
30 Immunglobulinen, insbesondere IgG, IgA IgE und IgM erklärt. Weiterhin spielt auch das TGF- β eine nicht unwichtige Rolle im Immunsystem, da TGF- β auf die β -Lymphozyten wirkt und einen Switch von IgE zu IgA bewirkt und eine Wirkung auf die Immunstimulanz hat.

35 Darüber hinaus hat sich herausgestellt, daß das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt auch günstige Auswirkungen auf die Wundheilung

hat, insbesondere bei postoperativer Nachsorge oder auch kleineren Verletzungen, bei oraler und zusätzlich lokaler topischer Anwendung.

Die Unteransprüche stellen bevorzugte Ausführungsformen der
5 vorliegenden Erfindung dar.

Weitere Vorteile und Merkmale ergeben sich anhand der Beschreibung von Ausführungsbeispielen.

10

Beispiel 1

20 Liter entfettete Rinderkolostralmilch, die in den ersten 24 Stunden nach der Geburt des Kalbes gewonnen wurden, wurden bei + 4°C durch Zugabe von 60 mMol EDTA und anschließend von 365 ml
15 HCl auf pH 2,54 gebracht. Diese pH-abgesenkte Rinderkolostralmilch wurde im Anschluß bei einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei die Temperatur konstant bei + 4°C bis + 8°C gehalten wurde. Es wurde dabei ein Filtermodul der Firma Millipore 1000 KD aus Zelluloseacetat wegen seiner geringen Proteinbindung
20 verwendet. Es wurden dabei 10 L Permeat gewonnen. Die Ausbeute betrug bei dieser Vorgehensweise 50%. Nach der Ultrafiltration wurde das klare Permeat mit 250 ml NaOH auf pH 6,2 angehoben. Die dabei entstandene leichte Trübung wurde durch Zentrifugation beseitigt. Das nun klare Permeat wurde mit 10 L Aqua dest. verdünnt und einer
25 weiteren Ultrafiltration mit einer Ausschlußmolekularmasse von 1000 Da unterzogen, um das bei der pH-Absenkung und anschließenden pH-Anhebung entstandene Salz zu entfernen. Dies hat auch eine gleichzeitige Entzuckerung zur Folge. Wiederum wurde das Rinderkolostralmilchprodukt konstant bei einer Temperatur von + 4°C
30 bis + 8°C gehalten und solange ultrafiltriert, bis die Ausgangsmenge von 10 Liter Retentat erreicht wurde. Dieses Retentat wurde nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt.

35

Das nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhaltene Kolostralmilchprodukt hatte die folgende analytisch erfaßte Zusammensetzung gemäß Tab. 1.

- 5 Besonders auffallend ist der hohe Anteil an Immunglobulinen und Wachstumsfaktoren, insbesondere IGF-1.

- 10 Ein derartiges Kolostralmilchprodukt kann direkt als Getränk verwendet werden oder kann zu unterschiedlichen Nahrungsmitteln zugesetzt werden, so beispielsweise auch zu Backwaren, insbesondere zu energiehaltigen Riegeln, bevorzugt zu sogenannten Powerbars. Der Zusatz zu Backwaren oder Riegeln erfolgt bevorzugt nach einer Sprühtrocknung oder einer Gefriertrocknung.

15

Tabelle 1

Energiegehalt	80,0	kJ/100g
pH	6,16	
Osmolarität	264,0	mOsm/kg
Gesamtprotein	0,3	g/l
Trockensubstanz	5,24	g/l
Asche	0,68	mg/100 ml
Laktose	0,2	mg/100 ml
Glukose	10,0	mg/100 ml
Gesamtkohlenhydrate	20,0	g/l
Fett	<0,03	mg/100 ml

VITAMINE

Vitamin A	<150,0	µg/100 ml
Thiamin (Vit. B1)	63,5	µg/100 ml
Riboflavin (Vit. B2)	620,0	µg/100 ml
Pyridoxin (Vit. B6)	3500,0	µg/100 ml
Cobalamin (Vit. B12)	0,034	µg/100 ml
Folsäure	2,65	µg/100 ml
Vitamin C	270,0	µg/100 ml

Cholecalciferol (Vit.D3)	0,28	µg/100 ml
Tocopherol (Vit. E)	30,0	µg/100 ml
Vitamin K	0,054	µg/100 ml
Ubichinon (Vit.Q 10)	5,4	µg/100 ml

IONEN

Natrium (Na)	943,7	mg/l
Kalium (K)	1883,5	mg/l
Kalzium (Ca)	490,52	mg/l
Magnesium (Mg)	147,98	mg/l
Eisen (Fe)	0,02	mg/l
Kupfer (Cu)	0,004	mg/l
Zink (Zn)	0,30	mg/l
Chrom (Cr)	0,0014	mg/l
Phosphor (P)	498,0	mg/l
Selen (Se)	0,018	mg/l

ORGANISCHE MOLEKÜLE

Kreatinin	17,2	mg/l
-----------	------	------

FREIE AMINOSÄUREN

Alanin	6,60	mg/l
Arginin	0,0056	mg/l
Tryptophan	2,66	mg/l
Cystin	<0,27	mg/l
Methionin	1,03	mg/l
Phosphoserin	1,05	mg/l
Taurin	<0,363	mg/l
Phosphoethanolamin	7,31	mg/l
Asparaginsäure	4,85	mg/l
Threonin	0,00014	mg/l
Serin	4,85	mg/l
Glutaminsäure	9,44	mg/l
Glutamin	7,99	mg/l
Prolin	7,37	mg/l
Glycin	4,85	mg/l
Alanin	6,6	mg/l
Citrullin	1,05	mg/l
Valin	11,13	mg/l
Isoleucin	4,85	mg/l
Leucin	9,44	mg/l
Tyrosin	3,26	mg/l
Phenylalanin	4,95	mg/l
β-Alanin	<0,27	mg/l
β-Aminoisobuttersäure	1,03	mg/l
Ornithin	0,53	mg/l
Lysin	7,99	mg/l

IMMUNGLOBULINE

IgG	98,0	mg/100 ml
IgA	3,0	mg/100 ml
IgM	2,0	mg/100 ml
IgE	0,026	µg/100 ml

**NATÜRLICHE WACHSTUMS-
FAKTOREN**

IGF-1 (Somatomedin C)	380,0	ng/ml
IGF-2	242,0	ng/ml
TGF-β	35,0	ng/ml

Beispiel 2

5

Es wurde bei der pH-Absenkung, Ultrafiltration, pH-Anhebung und Zentrifugation wie in Beispiel 1 verfahren. Danach wurden, um die Ausbeute zu vergrößern 10 L Aqua dest. hinzugefügt, die vorher ebenfalls auf pH 2,54 gebracht wurden. Die Ultrafiltration wurde
10 fortgesetzt und es wurden nochmals 10 L Permeat gewonnen. Dieses Permeat wurde zusammen mit dem Permeat der 1. Ultrafiltration, und zusätzlich 10 Litern Aqua dest. mit einer Ausschlußmolekularmasse von 500 Da ultrafiltriert, wobei eine Ultrafiltrationsmembran der Firma Amicon verwendet wurde. Auch hier wurde die Temperatur konstant auf + 4°C
15 bis + 8°C gehalten. Es wurde so lange ultrafiltriert, bis 15 L Retentat übrig blieben. Dadurch konnte die Ausbeute auf 75% erhöht werden. Dieses Retentat wurde nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die
20 Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

Vergleichsbeispiel 1

20 L entfettete Kolostralmilch wurden leicht erwärmt (ca. 38°C) und mit 240 ml HCl auf pH 4,5 abgesenkt. Dabei verklumpte das Kasein und war mit einem Sieb und einer anschließenden Zentrifugation leicht zu entfernen. Eine Trübung der Molke war dabei nicht zu verhindern.

- 5 Anschließend wurde die Molke mit einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei ein Modul der Firma Millipore verwendet wurde. Es wurden 7 L Permeat gewonnen, die mit 80 ml NaOH auf pH 6,2 gebracht wurden. Es entstand wieder eine leichte Trübung, die mit einer Zentrifugation entfernt werden konnte. Das
- 10 Permeat wurde nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

15

Vergleichsbeispiel 2

- 20 L entfettete Kolostralmilch wurden leicht erwärmt (ca. 38°C) und mit 240 ml HCl auf pH 4,5 abgesenkt. Dabei verklumpte das Kasein und war mit einem Sieb und einer anschließenden Zentrifugation leicht
- 20 zu entfernen. Anschließend wurde der pH mit 100 ml NaOH wieder auf pH 6,2 gebracht und mit einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei ein Modul der Firma Millipore verwendet wurde. Es wurde 7 L Permeat gewonnen. Diese wurden im Anschluß nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine
- 25 Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

Vergleichsbeispiel 3

20 L entfettete Kolostralmilch wurden bei + 4°C bis + 8°C mit 240 ml HCl auf pH 4,5 abgesenkt. Hierbei wurde festgestellt, daß das Kasein nur unzureichend verklumpte. Es konnte keine richtige Molke gewonnen werden. Das geronnene Kasein wurde abzentrifugiert und die restliche Milch wurde mit einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei ein Modul der Firma Millipore verwendet wurde. Das dabei entstandene Permeat (8,5 L) wurde mit 100 ml NaOH auf pH 6,3 gebracht und die Trübung wurde wiederum abzentrifugiert. Das Permeat wurde im Anschluß nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

Vergleichsbeispiel 4

20 L entfettete Kolostralmilch wurden ohne Vorbehandlung direkt bei einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei ein Modul der Firma Millipore verwendet wurde. Es wurden 10 L Permeat gewonnen. Diese wurden im Anschluß nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

Bei dem Beispiel 2 und den Vergleichsbeispielen wurden nur die IGF-1- und die TGF-β-Konzentrationen und das Immunglobulin G bestimmt, die folgende Werte enthielten:

Tabelle 2

	IGF-1 (ng/ml)	TGF- β (ng/ml)	IgG (mg/100 ml)
Beispiel 2	371	30	87
Vergleichs- beispiel 1	81	Spuren	43
Vergleichs- beispiel 2	48	nicht nachweisbar	25
Vergleichs- beispiel 3	63	nicht nachweisbar	35
Vergleichs- beispiel 4	23	nicht nachweisbar	15

Aus diesen Ergebnissen ergab sich eindeutig, daß eine pH-
 Absenkung mit anschließender Ultrafiltration, ohne daß der pH-Wert vor
 der Ultrafiltration wieder angehoben wird bessere Ergebnisse zeigt, als
 z.B. eine Ultrafiltration ohne pH-Absenkung. Es ergab sich ferner, daß
 eine pH-Absenkung auf ca. 4,5 ebenfalls kein zufriedenstellendes Ergeb-
 nis bringt, da sowohl bei pH 4,5 nicht alle Proteine in Lösung gehen, als
 auch bei der Entfernung des geronnenen Kaseins viele wertvolle Proteine
 mitgerissen werden. Weiterhin spielt die Temperatur ebenfalls eine
 wichtige Rolle, da eine Erhöhung der Temperatur eine Ultrafiltration nicht
 möglich macht, da das Kolostrum dabei verdickt.

Lediglich die in Beispiel 1 und 2 angegebenen Verfahren zeigten
 zufriedenstellende Ergebnisse.

Vergleichsbeispiel 5

Zum weiteren Vergleich mit einem Produkt gemäß der vorliegenden
 Erfindung wurde von denselben Ausgangsmengen an Rohkolostrum wie
 in Beispiel 1 ausgegangen und wie oben beschrieben entfettet, das
 entfettete Rohkolostrum wurde dann jedoch auf einen pH-Wert von ca.
 4,5 eingestellt und über einen Mikrofilter mit einer Porengröße von ca. 5

5257

µm abgetrennt. Das erhaltene Molkefiltrat wurde dann mittels Zugabe von Natriumhydroxid auf einen pH-Wert von ca. 7 eingestellt und anschließend steril filtriert.

- 5 Die Analyse eines derartigen Kolostralmilchproduktes gemäß dem Stand der Technik ist in Tabelle 3 gezeigt.

Ein Vergleich der Wachstumsfaktorenfraktion zeigt einen etwa um 100% niedrigeren Gehalt an IGF-1 und nicht meßbare Werte an IGF-2 und TGF-β. Das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt hat somit einen
10 signifikant höheren Gehalt an den für die günstigen pharmakologischen und vitalen Wirkungen erforderlichen Wachstumsfaktoren und weist ferner einen deutlich höheren Immunglobulingehalt auf.

15

Vergleichsbeispiel 5

Tabelle 3

Energiegehalt	80,0	kJ/100g
pH	6,55	
Osmolarität	418,0	mOsm/kg
Gesamtprotein	0,43	g/100 ml
Trockensubstanz	5,24	g/100 ml
Asche	0,82	g/100 ml
Laktose	<0,5	g/100 ml
Glukose	1,91	g/100 ml
Gesamtkohlenhydrat	4,0	g/100 l
Fett	<0,02	g/100 ml
IgG	0,039	g/100 ml

VITAMINE

Thiamin (Vit. B1)	40,0	µg/100 ml
Riboflavin (Vit. B2)	180,0	µg/100 ml
Pyridoxin (Vit. B6)	12,0	µg/100 ml
Cobalamin (Vit. B12)	0,041	µg/100 ml

Folsäure	4,2	µg/100 ml
Nicotinamid	83,0	µg/100 ml
Panhotensäure	300,0	µg/100 ml

IONEN

Natrium (Na)	1498,9	mg/l
Kalium (K)	1599,2	mg/l
Kalzium (Ca)	280,15	mg/l
Magnesium (Mg)	109,88	mg/l
Eisen (Fe)	<0,22	mg/l
Kupfer (Cu)	<0,05	mg/l
Mangan (Mn)	<0,05	mg/l
Zink (Zn)	<0,05	mg/l
Chrom (Cr)	<0,01	mg/l
Phosphor (P)	480,0	mg/l
Selen (Se)	0,002	mg/l

ORGANISCHE MOLEKÜLE

Kreatinin	34,4	mg/l
Kreatin	127,0	mg/l

FREIE AMINOSÄUREN

Arginin	5,6	mg/l
Tryptophan	<6,1	mg/l
Cystin	<0,7	mg/l
Methionin	1,0	mg/l
Phosphoserin	9,06	mg/l
Taurin	115,0	mg/l
Phosphoethanolamin	27,37	mg/l
Asparaginsäure	2,66	mg/l
Threonin	3,1	mg/l
Serin	5,04	mg/l
Glutaminsäure	37,0	mg/l

Glutamin	7,31	mg/l
Prolin	7,37	mg/l
Glycin	4,85	mg/l
Alanin	6,6	mg/l
Citrullin	1,05	mg/l
Valin	11,13	mg/l
Isoleucin	4,85	mg/l
Leucin	9,44	mg/l
Tyrosin	3,26	mg/l
Phenylalanin	4,95	mg/l
β -Alanin	<0,27	mg/l
β -Aminoisobuttersäure	1,03	mg/l
Ornithin	0,53	mg/l
Lysin	7,99	mg/l
Histidin	1,4	mg/l

NATÜRLICHE WACHSTUMS- FAKTOREN

IGF-1 (Somatomedin C)	70,0	ng/ml
IGF-2	nicht erfaßbar	
TGF- β	nicht erfaßbar	

Beispiel 3

- 5 Das Kolostralmilchprodukt gemäß Beispiel 1 wird nach bekannten Verfahren in Liposomen eingeschlossen und in eine Cremegrundlage (im Beispielsfalle Soja-Öl, Tegomuls, Vitamin E + A, Cholesterol, HSA, Contrex, Carotin DF + HF, Orangenblüten-Öl, Melissen-Öl, Mandarinen-Öl, Neroli-Öl und Aqua dest. mit einem Liposomengehalt von 0,1 ml/g
- 10 (10%)) eingebracht.

Eine derartige Liposomencreme wurde verwendet, um ihre Einwirkungen auf die Wundheilung und auf neurodermitische Ekzeme zu untersuchen.

- 5 Wie bereits eingangs beschrieben, zeigte sich eine signifikante
Besserung des gesamten dermatologischen Erscheinungsbildes der
Neurodermitis in einer placebokontrollierten Cross-over-Studie, wobei in
der Versuchsgruppe 20 Probanden teilnahmen und in der Kontrollgruppe
15 Probanden teilnahmen.

10

- Somit steht mit der vorliegenden Erfindung erstmals ein Verfahren
zu Verfügung, mit dem es möglich ist, die wichtigsten Bestandteile der
Kolostralmilch nahezu quantitativ in ein Kolostralmilchprodukt zu
überführen, welches dann hohe Gehalte an Wachstumsfaktoren und
15 Immunglobulinen aufweist.

- Selbstverständlich ist es möglich, gezielte Fraktionen, bei-
spielsweise immunglobulinangereicherte Fraktionen und/oder
Wachstumsfaktorfraktionen zu erhalten, die dann gegebenenfalls separat
20 entweder oral appliziert werden können oder jedoch in Liposomen
eingeschlossen werden können und dann in Form von Cremes, Pasten
oder Salben oder Emulsionen auf die Haut aufgetragen werden können.

- Erreicht wird eine derartige Fraktionierung des erfindungsgemäßen
25 Kolostralmilchproduktes durch weitere Ultrafiltrationen mit definierten
Ausschlußmolekularmassen von 300 kDa und/oder 150 kDa und/oder
100 kDa und/oder 50 kDa und/oder 30 kDa und/oder 20 kDa und/oder
10 kDa und/oder 5 kDa und/oder 1 kDa und/oder 0,5 kDa.

- 30 Weiterhin kann es vorteilhaft sein, den pH vor einer weiteren
Fraktionierung wieder anzuheben, wenn man z.B. eine Entsalzung bei 1
kDa oder 0,5 kDa vornimmt, um die Moleküle wieder so groß zu
machen, daß sie nicht mit durch den Filter gehen. Ob eine pH-Anhebung
durchgeführt werden sollte oder nicht, hängt also weitgehend davon ab,
35 was man mit weiteren Fraktionierungen erreichen will.

Welche Ausschlußmolekularmasse der Fachmann wählt, hängt ebenfalls davon ab, welche weiteren Fraktionen er aus dem erfindungsgemäßen Kolostralmilchprodukt erhalten möchte.

Ansprüche

- 5 1. Verfahren zur Herstellung eines wenigstens weitgehend
entkaseinierten Kolostralmilchproduktes, wobei
- Rohkolostrum entfettet wird;
- 10 derart angesäuert wird, daß Kasein in Lösung bleibt; und
- eine Ultrafiltration mit einer Ausschlußmolekularmasse von
ca. 10^6 Da durchgeführt wird.
- 15 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß
man das erhaltene Produkt mit weiteren
Ultrafiltrationsschritten in unterschiedliche
Molekularmassenbereiche fraktioniert.
- 20 3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß
man die weiteren Ultrafiltrationsschritte mit einer
Ausschluß-molekularmasse von 300 kDa und/oder 150
kDa und/oder 100 kDa und/oder 50 kDa und/oder 30 kDa
und/oder 20 kDa und/oder 10 kDa und/oder 5 kDa
25 und/oder 1 kDa und/oder 0,5 kDa, durchführt.
- 30 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch
gekennzeichnet, daß man den pH-Wert nach dem ersten
Ultrafiltrationsschritt und nach den weiteren Ultrafil-
trationsschritten auf den pH-Wert des Rohkolostrums,
insbesondere auf einen pH von ca. 3,0 bis 6,9,
vorzugsweise ca. 4,0 bis 5,5, besonders bevorzugt ca. 4,6
einstellt.
- 35 5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß man zum Ansäuern und/oder

zur pH-Einstellung Salzsäure, Phosphorsäure, Milchsäure und/oder Zitronensäure verwendet.

- 5

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man die jeweils erhaltenen Produkte, insbesondere durch reverse Osmose, durch Ultrafiltration mit ca. 1 kDa oder ca. 0,5 kDa und/oder durch Dialyse entsalzt.

10

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man die Produkte entzuckert, wobei enzymatisch und/oder über Ultrafiltration entzuckert wird.

15

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man dem erhaltenen Produkt Additive, insbesondere Vitamine, Aromastoffe, Geschmacksverbesserer, Konservierungsstoffe usw. zusetzt.

20

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man die erhaltenen Produkte sterilisiert, insbesondere sterilfiltriert.

25

10. Wenigstens weitgehend entkaseiniertes Kolostralmilchprodukt,

dadurch gekennzeichnet, daß

30 es nach einem Verfahren gemäß wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 9 erhältlich ist.

35

11. Kolostralmilchprodukt nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß es wenigstens ca. 75 ng/ml IGF-1 enthält.

- 5 12. Kolostralmilchprodukt nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, daß es, bezogen auf das Rohkolostrum, ca. 50 bis 95%, insbesondere ca. 60 bis 95%, vorzugsweise ca. 70 bis 95%, besonders bevorzugt ca. 80 bis 95%, insbesondere bevorzugt wenigstens ca. 90% der im Rohkolostrum vorhandenen Wachstumsfaktoren enthält.
- 10 13. Kolostralmilchprodukt nach Anspruch 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß es bovinen oder equinen Ursprungs ist.
- 15 14. Kolostralmilchprodukt nach einem der Ansprüche 10 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß es in flüssiger, fester, pastöser oder in mikroverkapselter Form, insbesondere in Liposomen eingeschlossen, vorliegt.
- 20 15. Getränk, dadurch gekennzeichnet, daß es ein Kolostralmilchprodukt gemäß wenigstens einem der Ansprüche 10 bis 14 enthält.
- 25 16. Verwendung eines Kolostralmilchproduktes gemäß wenigstens einem der Ansprüche 10 bis 14 als Arzneimittel, Nahrungsergänzungsmittel oder Kosmetikum.
- 30 17. Verwendung eines Kolostralmilchproduktes gemäß wenigstens einem der Ansprüche 10 bis 14 als Zusatz für Arzneimittel, Nahrungsergänzungsmittel, Getränke oder Kosmetika.
- 35 18. Verwendung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß das Kolostralmilchprodukt als Bestandteil von Babynahrung, diätetischer Nahrung, klinischer Nahrung, insbesondere Sondennahrung, verwendet wird.
19. Verwendung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß das Kolostralmilchprodukt als Arzneimittel zur

5 wenigstens unterstützenden Behandlung von
Neurodermitis, Wundheilung, Erkrankungen des
rheumatischen Formenkreises, Allergien, insbesondere
Heuschnupfen, Pollenallergien; Herzinfarkten und
muskulären Erkrankungen während der Rehabilitation,
sowie zur unterstützenden Behandlung von Leber- und
Knochenerkrankungen, verwendet wird.

10 20. Verwendung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet,
daß das Kolostralmilchprodukt zum Muskelzellschutz, zur
Abkürzung der muskulären Erholungsphase, insbesondere
im Sportbereich, zur Prophylaxe und Unterstützung viraler,
bakterieller und mykotischer Infektionen, sowie zur
Stärkung des Immunsystems, verwendet wird.

15 21. Verwendung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet,
daß das Kolostralmilchprodukt als Zusatz zu Backwaren,
insbesondere energiehaltigen Riegeln, Müsliriegeln oder
Powerbars, verwendet wird.

20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 97/01003

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 173999 A	12-03-86	DE 3432718 C	22-05-86
		JP 1768852 C	30-06-93
		JP 4057649 B	14-09-92
		JP 61068429 A	08-04-86
		US 4644056 A	17-02-87
WO 9510192 A	20-04-95	FI 934494 A	13-04-95
		AU 7659094 A	04-05-95
		EP 0723400 A	31-07-96
EP 334776 A	27-09-89	FR 2628973 A	29-09-89
EP 652013 A	10-05-95	DE 4337654 A	11-05-95
		JP 7206402 A	08-08-95
WO 9500155 A	05-01-95	AU 6847894 A	17-01-95
		EP 0711171 A	15-05-96
		FI 956064 A	15-12-95
GB 2289278 A	15-11-95	US 5645834 A	08-07-97
		CA 2148963 A	10-11-95
		IE 950335 A	29-11-95
WO 9308264 A	29-04-93	FI 91166 C	25-05-94
		AU 665581 B	11-01-96
		AU 2666792 A	21-05-93
		CA 2121472 A	29-04-93
		EP 0610245 A	17-08-94
		JP 7502889 T	30-03-95
		NO 941381 A	16-06-94
		NZ 244731 A	26-07-94
		US 5500229 A	19-03-96
		ZA 9207993 A	26-04-93
EP 471890 A	26-02-92	DE 4026365 A	27-02-92
		AT 112937 T	15-11-94
		DE 59007518 D	24-11-94
		JP 6121637 A	06-05-94
		US 5147548 A	15-09-92

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 97/01003

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 173999 A	12-03-86	DE 3432718 C	22-05-86
		JP 1768852 C	30-06-93
		JP 4057649 B	14-09-92
		JP 61068429 A	08-04-86
		US 4644056 A	17-02-87
WO 9510192 A	20-04-95	FI 934494 A	13-04-95
		AU 7659094 A	04-05-95
		EP 0723400 A	31-07-96
EP 334776 A	27-09-89	FR 2628973 A	29-09-89
EP 652013 A	10-05-95	DE 4337654 A	11-05-95
		JP 7206402 A	08-08-95
WO 9500155 A	05-01-95	AU 6847894 A	17-01-95
		EP 0711171 A	15-05-96
		FI 956064 A	15-12-95
GB 2289278 A	15-11-95	US 5645834 A	08-07-97
		CA 2148963 A	10-11-95
		IE 950335 A	29-11-95
WO 9308264 A	29-04-93	FI 91166 C	25-05-94
		AU 665581 B	11-01-96
		AU 2666792 A	21-05-93
		CA 2121472 A	29-04-93
		EP 0610245 A	17-08-94
		JP 7502889 T	30-03-95
		NO 941381 A	16-06-94
		NZ 244731 A	26-07-94
		US 5500229 A	19-03-96
		ZA 9207993 A	26-04-93
EP 471890 A	26-02-92	DE 4026365 A	27-02-92
		AT 112937 T	15-11-94
		DE 59007518 D	24-11-94
		JP 6121637 A	06-05-94
		US 5147548 A	15-09-92

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No.

PCT/DE 97/01003

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 A23C9/20 A23C9/142 A61K35/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 6 A23C A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 173 999 A (BIOTEST PHARMA) 12 March 1986 cited in the application see page 6, line 10 - line 19; claims 1-11 ---	10,13, 14,16-18
X	WO 95 10192 A (VIABLE BIOPRODUCTS) 20 April 1995 cited in the application see page 4, line 5 - line 11; claims 1-6 ---	10, 13-17,20
X	EP 0 334 776 A (GATTEFOSSE) 27 September 1989 see column 2; claims 1-7; example 1 ---	10-14, 16,17,19
X	EP 0 652 013 A (BIOTEST PHARMA) 10 May 1995 see page 4, line 13 - line 39; example 1 ---	10,13, 14,16, 17,19
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 September 1997

Date of mailing of the international search report

01.10.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patendaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Desmedt, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No
PCT/DE 97/01003

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 95 00155 A (VALIO BIOTUOTTEET OY) 5 January 1995 see page 4, line 27 - page 5, line 7; claim 1 see page 3, line 13 - line 7 ---	10-12, 16,17,19
X	GB 2 289 278 A (IMMUNO-DYNAMICS INC) 15 November 1995 see page 3 - page 6; claims 1-11 ---	10-14, 16,17
X	WO 93 08264 A (VALIO BIOPRODUCTS LTD) 29 April 1993 see claims 1-4; example 2 ---	10 1-3
A	EP 0 471 890 A (BIOTEST PHARMA) 26 February 1992 see example 1 -----	1